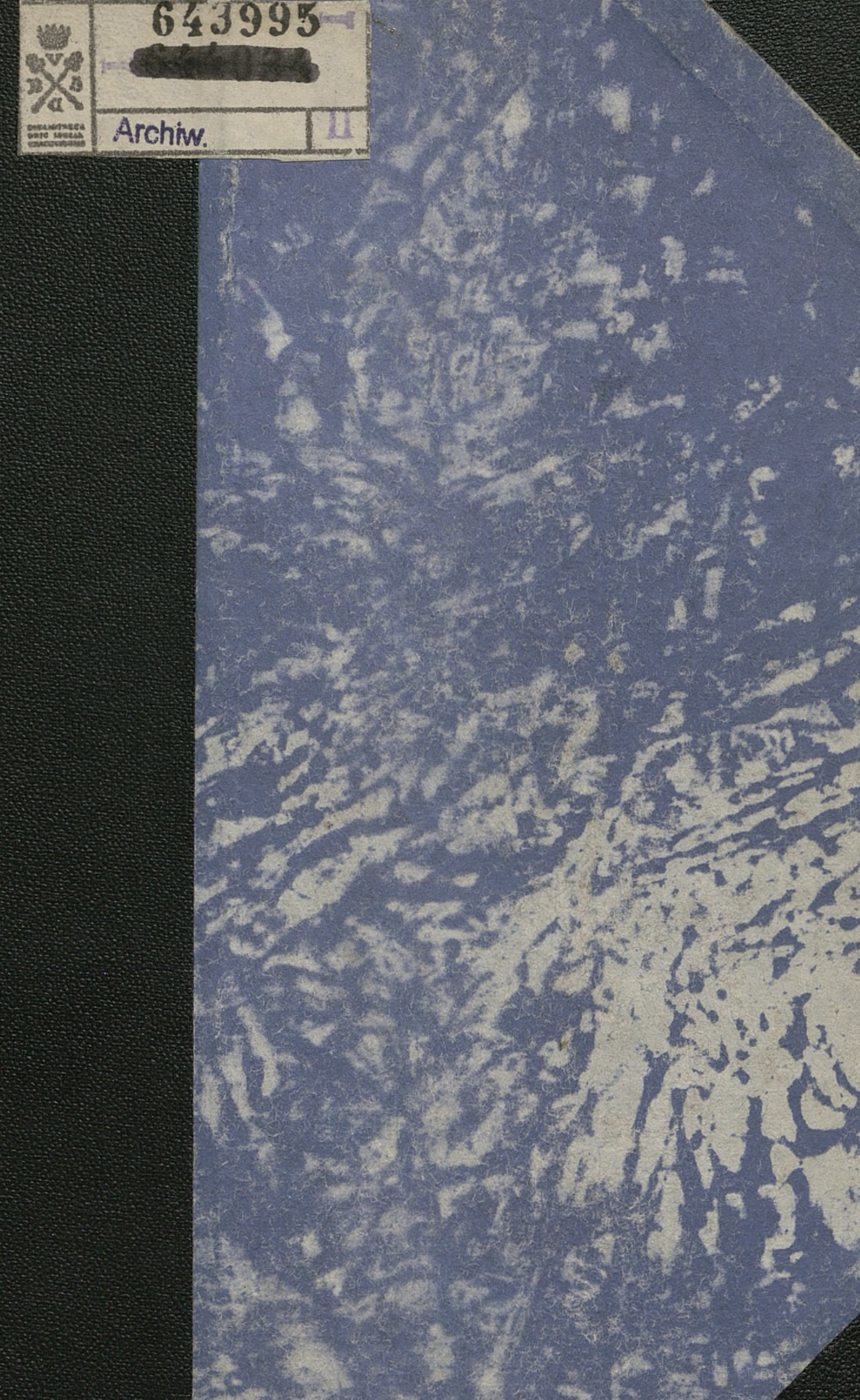
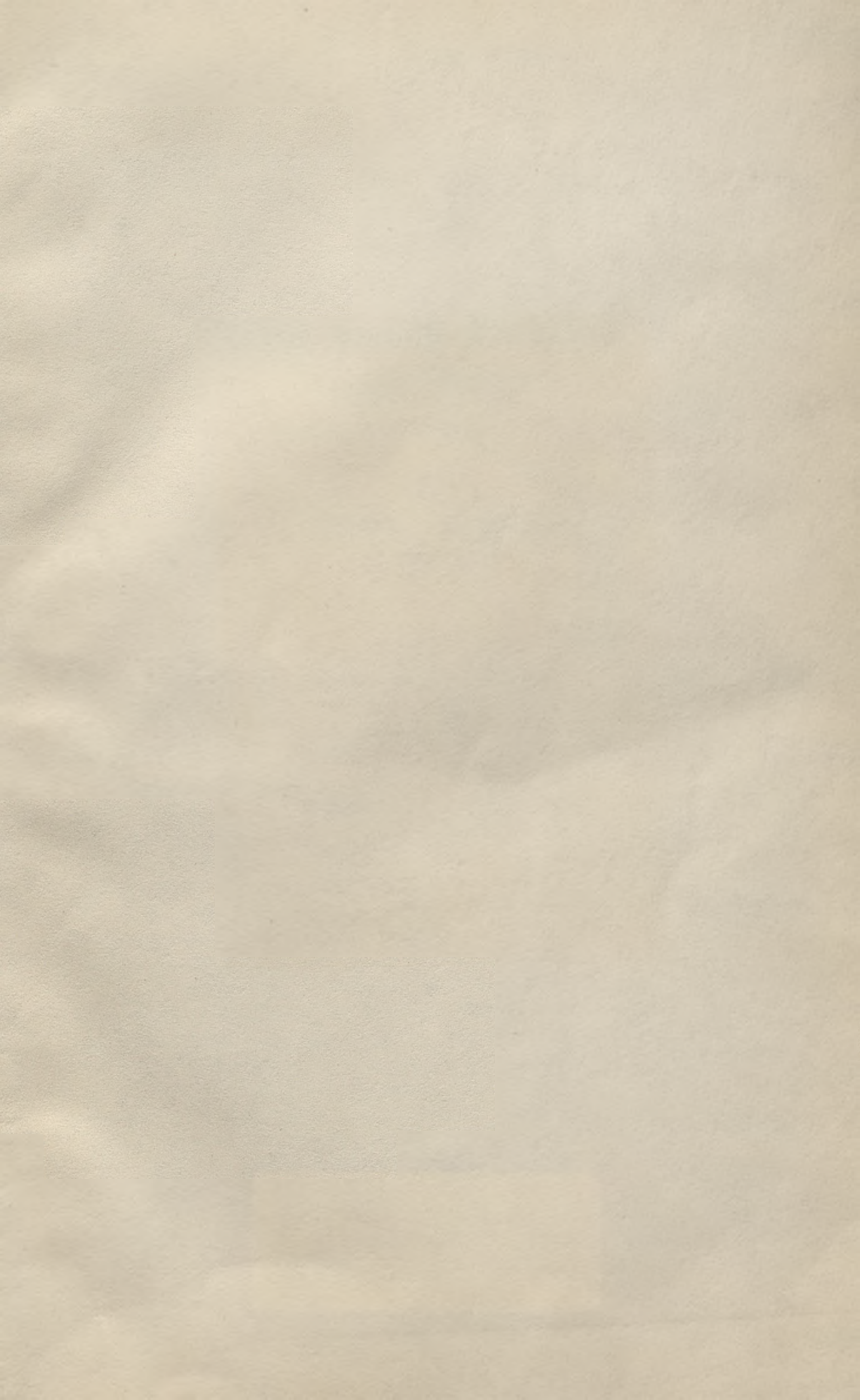



V
B J
C
643995
Archiw.





Ein neuer pathogener Spaltpilz

(Bacillus murisepticus pleomorphus).

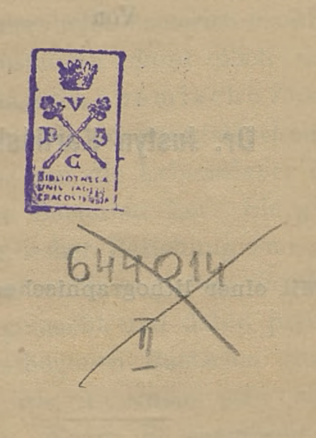
Von

Dr. Justyn Karliński.

Mit einer lithographischen Tafel.

Separat-Abdruck aus dem
Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Band V.

Jena,
Gustav Fischer.
1889.


V B J C
BIBLIOTHECA
UNIV. JAGELL.
CRACOVIENSIS
644014
II

Ein neuer pathogener Spaltpilz (Bacillus murisepticus pleomorphus).

Von

Dr. Justyn Karliński.

Mit einer lithographischen Tafel.

Gelegentlich meiner im path.-anat. Institut der k. k. Universität zu Innsbruck angestellten bakteriologischen Untersuchungen gelang es mir, aus dem Eiter bei einer phlegmonösen Entzündung des Unterschenkels eine Bakterienart zu isoliren, die gewisse kulturelle Aehnlichkeiten mit den Hauser'schen Proteusarten aufwies, und deren weitere Untersuchung endlich zur Differenzirung führte. Es gelang mir weiter, dieselbe Art aus dem eitrig-fibrinösen Ergusse bei einer an Septo-pyaemia gestorbenen Wöchnerin wie auch aus dem im Uterus und deren Adnexen befindlichen Abscessen ohne jede Beimengung anderer Organismen zu züchten. Ohne die zu beschreibende Art in causalen Zusammenhang mit dem puerperalen Processe bringen zu wollen, beschränke ich mich auf die Constatirung des Fundortes.

Die gefundene Bakterienart muss in die pleomorphen Arten eingereiht werden, da sie, anscheinend je nach der Consistenzbeschaffenheit des Nährbodens, je nach dem Alter der Kultur, endlich je nach den Temperaturverhältnissen, in denen dieselbe gezüchtet wurde, fast alle Bakterienformen von kokkenartigen, kleinen, ovalen Gebilden bis zu zierlichen Spirillen aufwies. Die Hauptform bleibt aber das Kurzstäbchen, und zwar sind dies kleine, mit abgerundeten Enden versehene, hier und da eine seichte Einschnürung in der Mitte zeigende Stäbchen, die sich mit allen Anilinfarbstoffen gut färben, den Farbstoff aber nach Abspülung mit Alkohol oder bei Anwendung der Gram'schen Methode sehr leicht verlieren. Wegen der zu grossen Variabilität der Dimensionen je nach dem Nährboden muss ich von der Anführung der numerischen Ergebnisse der Messungen Abstand nehmen; bei den kleinsten ist der Längsdurchmesser fast constant $2\,^1/_2$mal so gross als die Dicke. Dieselben Stäbchen kommen recht häufig als Doppelstäbchen vor, deren Vereinigungslinie sehr leicht erkennbar ist; recht oft, besonders unter den unten angeführten Verhältnissen, bilden sich lange homogene Stäbchen, die etwa 30mal die Grundform über-

treffen, endlich zierlich gewundene, verschieden lange Spirillenformen. Sehr selten, und zwar nur in Kulturen, deren Alter 3 Monate überschritt, und die in Thermostaten von 32—36° C gehalten wurden, sieht man, sowohl an den langen Stäbchen wie an den Spirillenformen, endständige Verdickungen, deren Durchmesser oft 5mal die ursprüngliche Dicke überragt, Formen, die ich entschieden als Involutionsstadien auffassen muss. Sporenbildung habe ich bei dieser Bacillenart nicht gefunden. Hier und da fanden sich bei der Färbung mit Loeffler'scher Methylenblaulösung die Pole stärker gefärbt, als die mittlere Partie, eine sonst recht oft vorkommende Eigenschaft der Kurzstäbchen.

Bei Anwendung einer heissen, gesättigten Magentarothlösung findet man, dass die aus älteren Kulturen hervorgegangenen Spirillenformen deutliche Gliederung zeigen, was bei Anwendung sonstiger Farbstoffe nie beobachtet wurde. Die Bacillen besitzen lebhafte Eigenbewegung. Die langen Stäbchen und Spirillen zeigen, im hängenden Tropfen beobachtet, sehr schnelle, schlängelnde Bewegung. Die Kurzstäbchen bewegen sich weniger rasch, behalten aber diese Eigenschaft bei genügendem Schutz vor Eintrocknung mehrere Tage hindurch. Eine Cilienbildung wurde nicht beobachtet.

Bei Kurzstäbchen wurde von mir sehr oft Neigung zur Bildung und Vereinigung in Zooglöaballen beobachtet, von denen sich hier und da einzelne Individuen abtrennen und sich einem andern Bacillenhaufen anschliessen. Sehr oft geräth ein solcher Haufen durch Hinzukommen eines grossen Stäbchens oder Spirillums in rasche Unordnung, wird förmlich zersprengt, um sich nachher wieder zu vereinigen. Bei der Spirillenform sieht man sehr oft das sich Abtrennen einzelner Theile ohne früher merkbare Einschnürung. Ein so abgetrennter Theil pflegt sich rasch zu entfernen; eine Wiedervereinigung wurde nicht beobachtet. Im hängenden Tropfen lässt sich sehr gut ein Ausstrecken eines sehr zierlich gewundenen Spirillums und die Umwandlung in ein langes Stäbchen, sowie auch die Rückkehr zur früheren Form beobachten.

Diese Umstände zwingen mich, den gefundenen Spaltpilz als einen pleomorphen Bacillus aufzufassen. Bei dieser Annahme werde ich noch durch den Umstand gestützt, dass es mir trotz der sorgfältigsten Untersuchung nie gelang, eine vollkommene Schraubenwindung bei den geschlängelten Formen zu sehen, und die gefundenen Spirillenformen den Eindruck auf mich machten, als ob ihre Gestalt lediglich durch die Consistenz des Nährmediums und der Umgebung bewirkt wäre. Besonders im frisch entnommenen Blute sieht man bei Eintritt der Gerinnung die Spirillenbildung aus langen Stäbchen sehr deutlich. Spannt man das Netz eines sterbenden narkotisirten Frosches unter das Mikroskop, so kann man im kreisenden Blute fast keine gewundene Form wahrnehmen, dagegen sieht man schon nach Verlauf von einer Stunde nach dem Tode des Frosches fast keine Langstäbchen, sondern lauter Spirillenformen.

Auf Plattenkulturen, welche mit 10%iger Fleischwasserpeptongelatine hergestellt wurden, sieht man schon nach Verlauf von

10 Stunden bei Zimmertemperatur kleine, ovale oder wetzsteinförmige, im durchfallenden Lichte lichtbraun gefärbte, im auffallenden weisse, scharf contourirte Kolonieen heranwachsen, die einen etwas dunkleren Rand und eine fast glatte, nur hier und da seicht rissige Oberfläche besitzen. Dieselben verlieren schon nach Verlauf der nächstfolgenden 10 Stunden ihre scharfen Contouren, sie werden buchtig und die glatte Oberfläche der umliegenden Gelatine faltet sich in concentrischen, sehr schmalen Ringen um die Kolonie herum, deren Farbe jetzt mehr grau, die Oberfläche aber bedeutend uneben wird.

Nach Verlauf von weiteren 10 Stunden bemerkt man, dass die concentrischen schmalen Ringe um die Kolonie herum stellenweise unregelmässig werden. Aus den buchtigen Rändern der Kolonie wachsen zierliche, leicht gelblich gefärbte, strahlenförmige Auswüchse, die über den concentrischen Faltenring hinausragen. Gleichzeitig sinkt die Kolonie etwas ein, wodurch in der Gelatine eine seichte Delle entsteht. Dieselbe Kolonie, nach Verlauf von 48 Stunden beobachtet, ist fast nicht zu erkennen.

Während die Mitte im durchfallenden Lichte dunkelbraun gefärbt und durch einen ziemlich breiten concentrischen Faltenring umgeben erscheint, besitzt sie in weiterer Umgebung einen breiten Kranz von zierlichen, unregelmässigen, mattgrauen Auswüchsen, die sich durch feine, fast fadenförmige Zweige verbinden, und die ursprüngliche Kolonie in jener Zeit mit einem $^1/_2$—1 mm breiten Schwärmerkranze umgeben. Eine 2 Tage alte Kolonie mit unbewaffnetem Auge beobachtet präsentirt sich als eine etwa $1^1/_2$ mm breite, mit wolkigem, grau-weissem Inhalte gefüllte Delle, mit einem grauen, matten, feuchtglänzenden, unregelmässigen Kranze umgeben.

Durch gelungene Klatschpräparate kann man constatiren, dass die in die benachbarte Gelatine ausgehenden Auswüchse aus lauter Bacillen bestehen, und zwar vorwiegend aus Kurzstäbchen, darunter hier und da seltene Langstäbchen bemerkbar. Durch den oben beschriebenen Strahlenkranz verbinden sich benachbarte Kolonieen rasch mit einander, wodurch die allgemeine Verflüssigung der Gelatineplatten inaugurirt wird. Platten, auf denen die geringe Zahl von ca. 10 Kolonieen zur Entwicklung gelangte, werden schon nach Verlauf von 3—4 Tagen verflüssigt, wobei die verflüssigte, stark alkalisch reagirende Gelatine einen widerlich süsslichen, buttersäureähnlichen Geruch entwickelt. Fasst man eine in der Tiefe der Gelatine liegende Kolonie ins Auge, so kann man alle oben besprochenen Umwandlungsphasen der Kolonie beobachten, mit dem Unterschiede, dass der Schwärmerkranz erst dann deutlich wird, wenn die Kolonie durch dellenartige Einsenkung der Gelatine zur Oberfläche dringt.

Um die Entwicklung einzelner Kolonieen genau studiren zu können, benutzte ich auf Anrathen des Herrn Prof. Dr. Pommer in Innsbruck, dem ich für die liebenswürdige Unterstützung, meiner, in dem unter seiner Leitung stehenden Institute begonnenen Untersuchungen, meinen herzlichsten Dank ausspreche,

folgendes Verfahren: Auf vorher durch trockne Hitze steril gemachte Deckgläschen werden je 1 Tropfen der mit entsprechend verdünnter, bakterienhaltiger Flüssigkeit inficirten Gelatine mittelst einer Platinöse aufgelegt und unter dem Schutz vor Luftkeimen zur Erstarrung gebracht. Dieselben Deckgläschen auf ebenfalls steril gemachte ausgehöhlte Objektträger durch Vaseline befestigt, geben recht brauchbare, kleine mikroskopische Kulturplatten, auf denen sich bei sorgfältiger Verdünnung einzelne Kolonieen entwickeln. Wenn es gelingt, ein Deckgläschen mit nur einer Kolonie zu bekommen, so geht die Beobachtung der Entwicklung mit Anwendung starker Vergrösserung sehr leicht von statten, man kann alle oben besprochenen Phasen genau beobachten, ja nach vollständiger Verflüssigung des aufgelegten Gelatinetropfens dasselbe Deckgläschen zur Beobachtung „im hängenden Tropfen“ benutzen. Auf diese Weise gelang es mir, zu constatiren, dass die Schwärmer aus Kurzstäbchen, unter denen sehr selten ein langer Bacillus vorkommt, bestehen, dass dieselben hier eine rasche Eigenbewegung besitzen, und durch langsame Consistenzveränderung der Gelatine, die schliesslich zur vollkommenen Verflüssigung derselben führt, sich allmählich weiter verbreiten. Die oben besprochene Veränderung der Kolonieen geht ebensogut auf 5—7 und 10 % Fleischpepton- und Fleischextraktgelatine von statten, wobei ich bemerken muss, dass die Fleischpeptongelatine genau nach dem bei C. Fränkel, die Fleischextraktgelatine nach dem bei Hauser angegebenen Recept verfertigt wurde.

Bei Anwendung der 5 % Gelatine geht die Umwandlung der einzelnen Koloniephasen und die Verflüssigung allerdings viel schneller von statten, als in 10 % Nährboden. Der einzige Unterschied wäre der, dass in dem letzteren das Auftreten von langen Stäbchen in den Schwärmern viel reichhaltiger, als in dem anderen Nährboden ist, ein meiner Beobachtuug nach keineswegs constanter Befund.

Nimmt man aus dem Bodensatze einer deutliche Verflüssigung zeigenden Kolonie einen kleinen Theil mittelst eines Capillarröhrchens heraus und verfertigt daraus Präparate, so kann man die Beobachtung machen, dass, während in den Klatschpräparaten aus den Schwärmern fast lauter Kurzstäbchen sich befanden, hier eine grosse Anzahl gewundener oder langer Stäbchen vorkommt, und die Kurzstäbchen in entschiedener Minderzahl auftreten. Nimmt man mittelst einer Platinnadel eine minimale Menge aus einem Kurzstäbchen haltigen Schwarm und impft auf frische, mit steriler Gelatine bestrichene Deckgläschen, so beobachtet man denselben Entwicklungscyklus der Kolonie; die in der Mitte befindliche wolkenartige Masse wird wiederum lauter lange Stäbchen und gewundene Spirillen beherbergen, ein Beweis, dass dieselben aus Kurzstäbchen hervorgegangen sind. Umgekehrt lehrte mich die mikroskopische Beobachtung der Kolonieen, die aus dem lange Stäbchen haltigen Inhalt der verflüssigten Masse hervorgegangen sind, dass die Kurzstäbchen meistens in den Schwärmern, die langen fadenförmigen Bacillen und gewundenen Spirillenformen in dem Bodensatz vorkommen.

Auf Agar-Agarplatten bietet die Entwicklung der Kolonieen geringe Mannigfaltigkeit. Die frischen Kolonieen präsentiren sich als ovale oder wetzsteinförmige, scharfkantige, im durchfallenden Lichte hellbraune, im auffallenden weisse Gebilde; dieselben verlieren aber schon nach Verlauf von 20 Stunden ihr glattes Aussehen, sie bekommen eine runzlige, gefaltete Oberfläche und büschelförmige, graubraun gefärbte, zierlich gewundene, in allen Richtungen sich ausbreitende Auswüchse; dieselben sind anfangs spärlich, wie dies aus Figur IV zu ersehen ist, wobei ich bemerken muss, dass die daselbst als vereinzelt abgebildeten Auswüchse ihre weitere Entwicklung und ihren Zusammenhang mit der Grundkolonie in der Tiefe besitzen, was erst durch feinere Einstellung der Mikroskopschrauben sichtbar ist. Nach 4tägigem Bestehen besitzt die ursprünglich wetzsteinförmige Kolonie eine Anzahl solcher Auswüchse, so dass sie ein durchweg borstiges Aussehen bekommt. Nach Verlauf von 6 Tagen sieht solch eine Kolonie, mit blossem Auge betrachtet, wie ein mattweisser, eigenthümlich feuchtglänzender Tropfen an der Oberfläche des Nährbodens aus; sie lässt sich leicht von demselben abheben und besteht fast vorwiegend aus Kurzstäbchen. Kolonieen, die im Thermostate bei Temperatur 36° C aufgewachsen sind, beherbergen hier und da längere, deutlich gegliederte Stäbchen; Spirillenformen sind von mir hier nie beobachtet worden. Impft man aus einer am Agar-Agar aufgewachsenen Kolonie etwas in die Nährgelatine hinein, so beobachtet man sofort Langstäbchen und Spirillenbildung in den neu entstehenden Kolonieen.

Impft man in erstarrte Fleischpepton- oder Fleischextraktgelatine eine kleine Menge der aus dem verflüssigten Bezirk einer auf der Platte gewachsenen Kolonie herstammenden wolkigen Masse, so beobachtet man schon nach 24 Stunden eine oberflächliche, trichterförmige Einsenkung des Nährbodens um den Impfstich herum, ausgefüllt mit grau-weisser, wolkiger Masse. Der Impfstich selbst ist grau-weiss und homogen. Schon nach Verlauf von 48 Stunden nimmt die Verflüssigung der Gelatine an der Oberfläche merklich zu; der Impfstich verbreitet sich zu einem Schlauche, welcher durch wolkenartigen, weissen Niederschlag gefüllt ist, rasch um sich greift, und schon nach 5 Tagen den ganzen Inhalt der Eprouvette einnimmt. Am Boden des Röhrchens befindet sich der oben erwähnte grau-weisse Satz, der übrige Inhalt ist klar, stark alkalisch reagirend und übelriechend.

In Agar-Agarstichkulturen ist kümmerliches Wachsthum, besseres bei 36° C Temperatur. Dort bildet sich an der Oberfläche ein zarter, weisser Pilzrasen; der Impfstich ist gleichmässig weiss-grau, ohne Veränderung der Umgebung, den ekligen Geruch verbreitend. In Strichkulturen bildet sich ein zuerst auf den Impfstrich beschränkter weisser Belag, der aber rasch denselben verlässt und die ganze schräge Oberfläche des Nährbodens einnimmt; im Condensationswasser dichte geballte Pilzmassen. Auf Kartoffelscheiben wächst er als weiss-grauer, saftiger, homogener Belag, der bald die ganze Oberfläche einnimmt, und beim längeren Stehen etwas

nachdunkelt. Die abgeschabte Oberfläche der Kartoffeln reagirt stark alkalisch und zeigt keine Farbenveränderung.

Im erstarrten Blutserum wächst der Bacillus als zarter, grauweisser Belag und verflüssigt rasch den Nährboden, im Bodensatze reichliche Bildung langer, gewundener Spirillen. In alkalischer Eiweissgallerte, die nach der Tarchanow-Rosenthal'schen Vorschrift verfertigt wurde, wächst der Pilz gut unter Verflüssigung des Nährbodens und Bildung eines weiss-grauen Bodensatzes. In Bouillon gebracht, verursacht er schon nach 2 Tagen eine gleichmässige Theilung des Inhalts unter Bildung eines weissen Bodensatzes mit stark alkalischer Reaction (selbst wenn die Bouillon vorher nicht alkalisirt war) und es tritt intensiver Geruch ein. In saurer (nicht alkalisirter) Gelatine wächst er viel langsamer, in der verflüssigten Masse finden sich fast vorwiegend Kurzstäbchen, desgleichen in Bierwürze-Gelatine[1]).

Durch Zugaben kleiner Mengen von Citronen- oder Weinsäure zur Gelatine wird der Nährboden für das Wachsthum dieses Spaltpilzes ungeeignet. Züchtet man ihn nach der von Buchner angegebenen Methode unter Sauerstoffabschluss, so beobachtet man ein rasches, kräftiges Wachsthum und Verflüssigung der Gelatine, nicht zu unterscheiden von den Kulturen, die bei genügendem Sauerstoffzutritt gewachsen sind. In Kulturen, die in Wasserstoffatmosphäre gehalten wurden, findet ebenfalls rasches kräftiges Wachsthum statt. Lässt man den Pilz in Gelatinekulturen in Schwefelwasserstoffatmosphäre stehen, so beobachtet man entweder gar kein Wachsthum oder nur ein sehr kümmerliches. Leitet man durch 1 Stunde in flüssig erhaltene Gelatine dasselbe Gas hinein und inficirt mit dem fraglichen Pilz, so beobachtet man gar keine Kolonieentwicklung. Wenn in Stichkulturen in Schwefelwasserstoffatmosphäre eine Entwicklung wahrnehmbar war, so war dieselbe nur auf den untersten Theil des Impfstichs als weisser, homogener Belag beschränkt, in den oberen Schichten der Gelatine, die von dem Gas durchdrungen waren, kein Wachsthum. Verflüssigung tritt in solchen Kulturen nie ein.

Der Pilz scheint gegen Einfrieren ungemein resistent zu sein, wenigstens konnte ich aus Eissplitterchen, die aus einer 6 Tage lang eingefrorenen Kultur herstammten, kräftige Kolonieen bekommen. Sterilisirt man den verflüssigten Inhalt einer Gelatinekultur durch strömende Wasserdämpfe 1/4 Stunde hindurch, bringt dann eine kleine Menge der pilzfreien, flüssigen Masse mit frischer verflüssigter Gelatine in Berührung und lässt dieselbe erstarren, so beobachtet man schon den nächsten Tag eine merkliche Consistenzveränderung derselben ohne jede Pilzentwicklung, die schon nach 3 Tagen zur vollständigen Verflüssigung der Gelatine führt.

Auf sterilem Fliesspapier oder an Seidenfaden eingetrocknete Pilzmassen behalten ihre Lebensfähigkeit sehr lange, wenigstens konnte aus derartigen 4 Monate alten Seidenfäden kräftiges Wachs-

---

1) Dieselbe wird bereitet, indem man zur filtrirten Bierwürze 7—8 % Gelatine zusetzt und ohne jede Zugabe sterilisirt.

thum erzielt werden. 10 Minuten langes Verbleiben solcher Seidenfäden in trockner Hitze von 100° C scheint die Lebensfähigkeit der Mikroorganismen nicht vollständig zu beeinträchtigen, da es mir gelang, aus denselben durch Plattenverfahren dennoch kräftige, wenn schon sehr spärliche Kolonieen zu bekommen. 3 Minuten langes Aussetzen derselben den strömenden Wasserdämpfen tödtet sie vollkommen, und 5% Carbolsäure hebt ihre Lebensfähigkeit erst nach 5, $^1/_{1000}$ Sublimat in einer Minute. Jodoformzugabe zu Bouillonkulturen wie auch das Bedecken der aufgewachsenen Kolonieen mit Jodoformpulver hindert das Fortschreiten der Kolonieen gar nicht. Bedeckt man die Oberfläche der erstarrten Gelatine mit einer 1 cm hohen Schicht Jodoform, giesst darauf flüssige Gelatine und impft in den erstarrten Nährboden Pilzmassen hinein, so beobachtet man, dass die Zwischenlage von Jodoform das Fortschreiten des Wachsthums im Impfstich, sowie die Verflüssigung des Inhaltes nicht im mindesten gehemmt hat. Inficirte Seidenfäden behalten trotz dem 1monatlichen Verbleiben im Jodoformpulver sowohl ihre Entwicklungsfähigkeit wie auch Virulenz. In keimreiches Brunnenwasser gebracht, behalten die Bacillen, bei Temperatur 10° C gehalten, lange ihre Lebens- und Entwicklungsfähigkeit; in der ersten Zeit (bis zum 8. Tage) konnte ich durch das Plattenverfahren eine rasche Zunahme auf Kosten der vorhandenen Wasserbakterien beobachten, die fast gänzlich bis auf einige verflüssigende Bakterienarten verschwanden, nachher eine bedeutende Abnahme der Kolonieenzahl; es liessen sich aber noch nach 4 Wochen einzelne Keime im Wasser nachweisen. In keimreiches Kanalwasser gebracht und bei Temperatur 16° C gehalten, liessen sie sich noch nach Verlauf von 3 Wochen durch entsprechende Verdünnung und Plattenverfahren nachweisen. In Bouillon, die mit Streptococcus pyogenes inficirt war, gebracht, beeinträchtigt er durch sein schnelles Wachsthum die Entwicklungsfähigkeit des ersteren, da ich durch Plattenkulturen eine rasche Abnahme der Zahl der Streptococcuskolonieen, ja sogar deren gänzliches Verschwinden nach 7 Tagen constatiren konnte.

Im Bodensatze 6 Wochen alter Bouillonkulturen, wie auch überhaupt aus dem Satze verflüssigter Kulturen, bekommt man die schönsten gewundenen Spirulinen, die in Kulturen, welche durch 3 Wochen der Temperatur 36° C ausgesetzt waren, hier und da Verdickungen aufweisen, und in Folge dessen Keulen oder Spermatozoen ähnlich sehen. Das Protoplasma so veränderter Formen erscheint gekörnt; dieselben besitzen keine Beweglichkeit, verminderte Fähigkeit Farbstoffe anzunehmen, alles Zeichen einer verminderten, wenn nicht schon aufgehobenen Lebensfähigkeit. Das Temperaturoptimum scheint innerhalb der Grenzen der Zimmertemperatur zu liegen, wenigstens konnte ich in den in Zimmertemperatur gehaltenen Bouillonkulturen viel schneller das Auftreten von langen, geraden und gewundenen Stäbchen, als wie in den Kulturen, die bei Temperatur 32° C—36° C gehalten wurden, constatiren. Wenn man in einer sterilisirten Eprouvette frisches Kaninchenblut auffängt und demselben einige Oesen

bakterienreicher Bouillonkulturen zusetzt, so beobachtet man, dass das Gerinnen des Blutes keineswegs beeinträchtigt wird (reichliches Vorkommen von „Geldrollen"), doch kommt nach längerem Stehen keine Blutserumsschichte zur Ausscheidung, und der ganze Inhalt der Eprouvette verwandelt sich in eine braunrothe übelriechende Masse, in der man sehr selten gut erhaltene Blutkörperchen, dagegen sehr reichhaltige Bildung von Langstäbchen und Spirulinenformen findet.

Bringt man einer weissen Maus in eine an der Schwanzwurzel angelegte Hauttasche eine Oese aus einer bakterienreichen Bouillonkultur hinein und verschliesst dieselbe mit Collodium, so kann man folgendes Verhalten beobachten: In den ersten 6 Stunden nach dem Eingriffe zeigt die Maus weder Appetit- nach Beweglichkeitsabnahme, erst nach dieser Zeit zeigt sich eine vermehrte Athmungsfrequenz und Trägheit. Die Maus verkriecht sich in eine Ecke des Käfigs, sitzt dort zusammengekauert, athmet rasch und zeigt keinen Appetit, nach 10—12 Stunden fängt die Conjunctiva an, ein gelblichweisses Sekret abzusenden, wodurch die Augen verklebt werden. Die Maus pflegt ihr Unbehagen in dieser Zeit durch Ortswechsel zu zeigen, es stellt sich Durchfall, auch heftiger Durst ein. Nach Verlauf von 22—24 Stunden findet man die Maus todt, die Gliedmassen zusammengezogen, meist in sitzender Stellung. Bei der Obduction findet man in der Umgebung der angelegten Hauttasche einzelne punktförmige Blutaustritte und beschränkten serösen Erguss. Bei Besichtigung der innern Organe fällt vor allem der grosse Milztumor auf. Die Milz ist 3—4fach vergrössert, dunkelroth gefärbt, ihre Kapsel gespannt und glatt, ihr Gewebe von fast flüssiger Consistenz. Sämmtliche Bauchorgane zeigen grossen Blutreichthum, der seröse Ueberzug der Eingeweide wie auch das Mesenterium reichliche Injection selbst der kleinsten Gefässe. Das Herz ist mit flüssigem, dunkelrothem Blute überfüllt, an der Pleura punktförmige spärliche Blutextravasate, die Lungen vollkommen lufthaltig. Die Nieren blutreich, zeigen an der Grenze der Mark- und Rindenschicht reichliche kleine Blutaustritte, die Blase ist meistens voll, hier und da der Inhalt mit Blut gemengt. Die Gedärme mit flüssigem Koth gefüllt, zeigen eine diffuse Röthung der Schleimhaut mit einelnen Blutaustritten. Bei Anwendung einer grössern Menge der inficirten Flüssigkeit, bei subcutanen Injectionen von $^1/_2$ ccm einer bakterienhaltigen Bouillonkultur ist der seröse Erguss und die Infiltration des Unterhautzellgewebes viel grösser, auch begegnete ich bei 2 auf diese Weise behandelten Mäusen dem Auftreten serofibrinösen peritonealen Ergusses. Bei mikroskopischer Untersuchung der sofort nach dem Tode entnommenen Körpertheile beobachtet man das Vorkommen sehr zahlreicher Kurz- und Langstäbchen im Blute sämmtlicher Organe sowie in dem serösen Infiltrate. Dieselben finden sich im Herzblute weniger reichhaltig, als im Blute der peripheren Gefässe, sie finden sich reichhaltig in der Milz, in den kleinen Gefässen des Mesenteriums, in den Capillaren der Leber und der Niere. Im letzteren Organe am häufigsten in den punktförmigen Extravasaten, welche meistentheils in der Rinden-

schicht der Niere liegen. Das Epithel der Nierenkanäle ist gequollen und gekörnt und liegt oft als körnige Masse im Innern des Kanälchens. In den Gefässknäulchen wurden die Bacillen nur vereinzelt angetroffen.

Ich muss nochmals hervorheben, dass die Mikroorganismen nur in den Blutbahnen und nicht im umliegenden Gewebe in Organen, die sofort nach dem Tode in Alkohol behufs Härtung gelegt wurden, zu finden sind. Untersucht man dagegen Organe erst mehrere Stunden nach dem Tode, so beobachtet man: 1) ein reichhaltiges Auftreten von gewundenen Bacillenformen im Blute und 2) das Auftreten derselben auch ausserhalb der Gefässe. Zur Sichtbarmachung der Bacillen verwende ich am liebsten wässerige Magentarothlösung, für Schnitte erwies sich das 24stündige Einlegen in Loeffler'sche Methylenblaulösung sehr vortheilhaft. Die Bacillen pflegen sich bei Entwässerung und Aufhellung der Schnitte sehr leicht zu entfärben. Die Identität der im Blute und den Organen aufgefundenen Bacillen mit den subcutan eingeführten wurde bei einem jeden Versuche durch Plattenverfahren kontrolirt. Bei mikroskopischer Untersuchung der Blutproben wurde hier und da das Haften einzelner Kurzstäbchen an der Oberfläche oder am Rande sowohl der weissen wie rothen Blutkörperchen beobachtet. Dagegen wurden dieselben nie im Innern der weissen Blutkörperchen gefunden. Unter den 43 zu Versuchen verwendeten weissen Mäusen überlebte keine einzige die subcutane Einführung des fraglichen Bacillus länger als 48 Stunden. Bei Einführung in die Bauchhöhle starben die Thiere binnen 8—10 Stunden.

Bei Einführung einer geringen Menge bakterienhaltiger Flüssigkeit mittelst einer kleinen Platinöse in die Geschlechtstheile einer Maus, die vor 1 Stunde 7 Junge geworfen hatte, starb sie nach 36 Stunden unter denselben Erscheinungen wie sonst, mit dem einzigen Unterschied, dass in den Gebärmutterhöhlen eine grössere Menge blutig seröser, bakterienreicher Flüssigkeit nebst zahlreichen Blutextravasaten bemerkbar war.

Durch mikroskopische und bakteriologische Untersuchung des Harnes konnte eine grosse Anzahl von lebensfähigen Mikroorganismen von der eingeführten Art gefunden werden, ein Beweis dafür, dass sich der Organismus dieser Eindringlinge auf diesem Wege zu entledigen bemühte. Schon 8 Stunden nach der subcutanen Einführung der Mikroorganismen konnte ich dieselben bei einigen durch Chloroform getödteten Mäusen im Harne nachweisen, während in dieser Zeit die Ansiedlung in Organen eine ungemein spärliche war.

Behufs Constatirung, in welcher Zeit die subcutan eingeführten Bacillen im allgemeinen Kreislauf erscheinen, wurde in sterilisirtem destillirtem Wasser eine Aufschwemmung aus einer 4 Tage alten Agarkultur des fraglichen Bacillus gemacht, und zwar, wie durch die Plattenkulturen constatirt wurde, entfielen auf 1 ccm des Wassers etwa 730 Keime. Von dieser Aufschwemmung wurden 8 Mäusen je 0,2 ccm subcutan injicirt und die Mäuse in je 2stündigen Abständen durch Chloroform getödtet. Mittelst einer sterilisirten

Spritze wurde dann einer jeden der getödteten Mäuse aus dem Blute des Herzens und der grossen Gefässe 0,3 ccm entnommen und zu Plattenkulturen verwendet. Auf diese Weise wurde constatirt, dass das Blut der Mäuse, die 4 resp. 6 Stunden nach der Impfung getödtet wurden, noch gar keine Keime enthielt; nach 8 Stunden wurden schon 180 Keime pro ccm Blut gefunden, welche Anzahl in den nächstfolgenden Stunden stieg, so dass das Blut der 14 Stunden nach der Impfung getödteten etwa 800 Keime pro ccm enthielt. Durch diesen Versuch wurde weiter constatirt, dass der Milztumor und die Ansammlung der Bakterien im Milzgewebe später, als die oben beschriebenen Blutextravasate in der Niere auftraten; die letzterwähnten Veränderungen waren schon 8 Stunden nach der Impfung bemerkbar, in derselben Zeit enthielt auch der in der Blase enthaltene Harn reichliche Mengen von Keimen. Trotz genauer Untersuchung gelang es mir nicht, in der Gallenblase Keime nachzuweisen, auch war die Bakterienansammlung in den Lebergefässen, trotz der reichhaltigen Blutüberfüllung derselben, im Vergleich mit dem Bakteriengehalt der Niere verhältnissmässig geringer.

Entnimmt man einer frisch gestorbenen Maus etwas Blut und impft eine andere, so stirbt dieselbe unter denselben Erscheinungen binnen 26—36 Stunden. Der verspätete Erfolg scheint lediglich in der Verdünnung zu liegen. Durch eine Reihe von Uebertragungen von einer Maus auf die andere konnte keine wesentliche Veränderung oder Steigerung der Virulenz beobachtet werden. So starb z. B. eine Maus, die mit dem bereits 6mal übertragenen Blute geimpft war, nach Verlauf von 36 Stunden, während eine mit 4mal übertragenem Blute geimpfte auch in derselben Zeit verschied. Durch eine Reihe von Uebertragungen von Gelatinekulturen konnte die Abschwächung der Virulenz erst bei vorschrittenem Alter derselben beobachtet werden, eine 28mal übertragene, 6 Wochen alte Kultur erwies sich ebenso virulent wie die ersten; eine 10 Wochen alte (in Zimmertemperatur gehaltene) tödtete eine Maus erst nach 96 Stunden und eine Immunität durch ganz abgeschwächte 12 Wochen alte und die längste Zeit in Thermostaten bei 36° C gehaltene konnte nicht erzielt werden. Kulturen, die fast durchweg keulenartige Verdickungen tragende Langstäbchen und Spirulinen beherbergten, erwiesen sich bei Impfungen indifferent. Sterilisirt man eine verflüssigte Gelatinekultur vier Tage hindurch je 10 Minuten bei 65° C und impft mit derselben Masse, so zeigen Mäuse nach Verlauf der ersten 8 Stunden wohl verminderte Fresslust und Diarrhöe, gehen aber nicht zu Grunde.

Während die weissen Mäuse auf Impfungen mit der fraglichen Bakterienart prompt und verhältnissmässig rasch reagirten, zeigten sich die grauen Feld- und Hausmäuse verhältnissmässig resistenter, da von 5 Stück mit denselben Mengen geimpften nur 3 zu Grunde gingen, und zwar die erste 48, die zweite 60, die dritte 72 Stunden nach der Impfung, während die auf dieselbe Weise geimpften weissen Mäuse, die als Kontrolethiere zum Versuch verwendet wurden, binnen 24 Stunden verendeten. Die 2 vom ersten Versuch am Leben gebliebenen grauen Mäuse gingen dennoch bei nach-

heriger Impfung mit grösseren Mengen im Verlauf von 3 resp. 4 Tagen zu Grunde. Auch durch Einimpfung von nicht virulenten, viele Involutionsformen zeigenden Kulturen in weisse Mäuse und nachheriger, im Verlauf von 2—5 Tagen wiederholter Impfung mit virulenten Bakterien konnte keine Immunität erzielt werden, da dieselben in 23—26 Stunden nach der zweiten Impfung, obwohl die zweite Menge äusserst gering war, zu Grunde gingen.

Auf weisse Ratten verimpft, zeigte sich dieser Bacillus entweder ganz indifferent oder nur Eiterung erregend. In dem Inhalte zweier auf diese Weise erzielter kleiner, keine Tendenz zu Vergrösserung zeigender Eiterherde konnten die eingespritzten Bakterien in sehr spärlicher Menge und fast durchweg in Kurzstäbchenform nachgewiesen werden. Der Abscessinhalt, in eine weisse Maus verimpft, tödtete dieselbe innerhalb 24 Stunden unter den oben besprochenen Erscheinungen, ohne dass irgendwo Eiterherde bemerkbar wurden.

Durch subcutane Einimpfung bei Meerschweinchen konnten entweder gar keine Erscheinungen oder nur umschriebene bakterienhaltige Eiterherde erzielt werden. Bei Einspritzung einer bakterienhaltigen, wässerigen Aufschwemmung in die Halsvene wurde der Tod der Versuchsthiere innerhalb 2—5 Tagen erzielt. Die Erscheinungen waren durchweg dieselben wie bei Mäusen und nur die Blutüberfüllung der Gedärme und Aufquellung der Darmschleimhaut, besonders im Dünndarm stärker, als bei den Mäusen. Ein geimpftes Meerschweinchen zeigt nach 24 Stunden verminderte Beweglichkeit und Fresslust, sitzt mit aufgesträubten Haaren in der Käfigecke, ist gegen jede Berührung sehr empfindlich, zeigt Diarrhöe und in den letzten Lebensstunden liegt es keuchend auf der Seite.

Viel empfindlicher, als die Meerschweinchen zeigten sich die Kaninchen, dieselben reagiren auf subcutane Einimpfung entweder durch locale Erscheinungen oder durch allgemeine Infection. Bei Einimpfung in das wenig nachgiebige Unterhautzellgewebe am Ohr bemerkt man schon nach Verlauf von 24 Stunden starke Infiltration und dunkelrothe Verfärbung der Umgebung der Impfstelle, welche sich im Verlauf der folgenden 2—3 Tage zu vergrössern pflegt, die Haut trocknet ein, wird rissig und es kommt zur Bildung eines oberflächlichen Geschwüres. Amputirt man in dem Stadium das Ohr und verwendet es zu mikroskopischen Präparaten, so bemerkt man zwischen den aus einander getriebenen spärlichen Bindegewebsbalken reiche Ansammlung von rundzelligen Elementen mit grosser Anhäufung von Bakterien der eingeimpften Art, die Knorpelzellen aufgequollen und gekörnt. Wird das Ohr nicht abgetragen, so erfolgt binnen 5—7 Tagen bei rascher Abmagerung des Thieres der Tod. Bei der Section findet man nebst Milztumor constante Blutextravasate in den Nieren und reichhaltige Blutüberfüllung der Gedärme. Sowohl im Blute wie im Inhalt der Harnblase und sämmtlichen Baucheingeweiden zahlreiche Bacillenansiedlungen. Nur ein einziges Mal unter 16 zu Versuchen verwendeten Kaninchen hatte ich Gelegenheit, nebst den oben be-

sprochenen Veränderungen, Schwellung der Mensenterialdrüsen, Vergrösserung der solitären und aggregirten Lymphdrüsen der Darmschleimhaut, wie auch kleine, oberflächliche, zwischen den Schleimhautfalten des Dünndarms gelegene seichte, vertikal zur Längsachse des Darmes gelegene, mit blutigem Schorf bedeckte Geschwüre zu beobachten. In den aus den geschwollenen Darmdrüsen verfertigten Präparaten und Kulturen konnte eine spärliche Menge der in die Ohrvene injicirten Bacillen und zwar nur in Kurzstäbchenform angewiesen werden. In den Geschwürsrändern und im Geschwürsgrund fehlten dieselben vollständig. Das betreffende Kaninchen, ein junges und kleines Exemplar, erlag einer 0,3 ccm Einspritzung in die Ohrvene innerhalb vier Tagen; das Thier hatte während dieser Zeit heftige Diarrhöe. Fütterungsversuche mittelst Magensonde führten sowohl bei jungen wie bei älteren Thieren zu keinen Resultaten. In einem einzigen tödtlich verlaufenden Falle war eine starke Magenblutung in Folge der Verletzung der Magenschleimhaut die Todesursache. Merkwürdiger Weise konnten in dem Mageninhalt, obwohl der Tod 5 Stunden nach der Fütterung eintrat, gar keine Keime der eingeführten Art (der Rest der zur Fütterung verwendeten Kultur erwies sich als virulent) nachgewiesen werden. Bei Einführung einer grösseren Menge virulenter Kultur in die Bauchhöhle konnte in 2 Fällen nebst der allgemeinen und binnen 4 Tagen tödtlichen Blutmykose reichlicher, serös-fibrinöser, bakterienreicher peritonealer Erguss constatirt werden, die Gedärme zeigten durch starke Injection der Gefässe deutliche entzündliche Reizung.

Bei zwei zu Versuchen verwendeten Hunden, von denen einem subcutan 1 ccm virulenter Kultur applicirt und dem andern 1 ccm wässeriger Aufschwemmung des betreffenden Bacillus in die Halsvene injicirt wurde, traten nach 8 Stunden Zeichen von Mattigkeit und Diarrhöe auf, die sich aber bald verloren; die Thiere überstanden den Eingriff ganz gut.

Spritzt man einem Frosch in die dorsalen Lymphsäcke eine wässerige Aufschwemmung des oben besprochenen Bacillus, so stirbt das Thier innerhalb 2—4 Tagen. Als constante Erscheinung kann ein seröser Erguss unter der Rückenhaut und in der Bauchhöhle nebst Blutüberfüllung der Bauchorgane constatirt werden. In der serösen Flüssigkeit findet sich eine sehr grosse Menge der eingespritzten Bakterien, meistens in Kurzstäbchenform auftretend, von denen eine sehr grosse Anzahl innerhalb der weissen Blutkörperchen eingeschlossen ist. Die weissen Blutkörperchen erscheinen wie vollgepfropft, sehr oft kommen dieselben wie geplatzt vor (obwohl die letztere Erscheinung möglicherweise künstlich beim Auftragen auf Deckglas erzeugt werden könnte), sehr oft findet man Kurzstäbchenhäufchen, die durch ihre Anordnung darauf hinzuweisen scheinen, dass sie aus zerfallenen weissen Blutkörperchen frei wurden. Hier und da findet man auch lange Stäbchen, an denen manchmal 2—5 weisse Blutkörperchen haften.

In einigen, in hängenden Tropfen beobachteten serösen Mengen konnte ich bemerken, dass es sich hier bloss um zufälliges Ange-

klebtsein handelte, da die Bacillen ausnahmslos diese Lage verliessen, um sich gelegentlich an ein anderes weisses Blutkörperchen anzulehnen. Bei dieser Sorte von Präparaten gelang es mir nie, ohne Färbung die Bacillen im Innern des Blutkörperchens zu sehen, was möglicherweise von dem geringen Unterschiede an Lichtbrechungsvermögen der Bacillen und des Zellenprotoplasmas liegen mag. Ohne die Erscheinungen als Phagocyten auffassen zu wollen, constatire ich nur das Factum, dass die in Rede stehenden Bacillen auch innerhalb der weissen Blutkörperchen vorkommen können, was mir, trotz genauer Untersuchung bei Warmblütern, nie, weder im Blute noch in der Milzpulpa aufgefallen ist. Innerhalb des Froschkörpers, gleichviel, ob die Frösche bei Zimmertemperatur oder bei einer Temperatur von 22° C gehalten wurden, konnte eine Abschwächung der Virulenz nicht beobachtet werden; mit der serösen Flüssigkeit oder mit dem Herzblut kann man die Mäuse innerhalb 24 Stunden tödten, ja wie ich es durch einen Versuch constatiren konnte, kommt es innerhalb des Froschkörpers zu einer reichhaltigen Vermehrung der injicirten Bacillen, ein Zeichen, dass hier weder die weissen Blutkörperchen, noch die Zusammensetzung der Lymphe einen deletären Einfluss ausüben. Eine Spirillenbildung innerhalb des Froschserums ist nicht beobachtet worden, zahlreiche dagegen im Blute.

Fassen wir die Ergebnisse der Untersuchung zusammen, so stellt sich vor allem heraus, dass es sich hier um einen polymorphen, pathogenen Mikroorganismus handelte. In Anbetracht seiner exquisit pathogenen Eigenschaft für Mäuse, in Anbetracht des Pleomorphismus, welchen der gefundene Spaltpilz darbot, in Berücksichtigung der fast constanten und vorwiegend auftretenden Stäbchenform habe ich demselben den Namen Bacillus murisepticus pleomorphus gegeben. Wie schon oben erwähnt, bietet derselbe formelle wie kulturelle Aehnlichkeiten mit den von Hauser aufgefundenen Proteusarten. Aber selbst in dem Fall, dass sich die Hauser'sche Artbenennung in der Bakterieneintheilung behaupten könnte, kann der oben beschriebene Bacillus dennoch nicht unter dieselben eingetheilt werden. Das Auftreten von Schwärmern ist, meines Erachtens nach, eine durch Consistenzveränderung des Nährbodens bewirkte Erscheinung, und ich muss mich in dieser Hinsicht vollkommen der von Hueppe[1]) bereits vor Jahren aufgestellten Ansicht anschliessen. Die Schwärmerbildung ist keine nur den Proteusarten eigne Eigenthümlichkeit, es ist mir gelungen, dieselbe auch bei andern bis jetzt noch nicht näher studirten Wasserbakterien zu beobachten.

Ich habe z. B. einen gelben Farbstoff producirenden Bacillus aus dem Wasser gezüchtet, bei dem es lange vor der makroskopisch sichtbaren Verflüssigung des Nährbodens zur Schwärmerbildung kommt, deren Bilder vollkommen den bei Proteus mirabilis beobachteten gleich kommen, Schwärmer, die sogar auf 10% Gelatine schöner und deutlicher zum Vorschein kamen, als dies bei

1) Fortschritte der Medicin. 1885. pag. 580—583.

5 oder 7% der Fall ist. Auch die pathogene Eigenschaft des beschriebenen Spaltpilzes, die nicht an den Nährboden gebunden ist, sondern auch den im Blute kreisenden Bacillen zukommt, unterscheidet denselben von den Hauser'schen Proteusarten, die wohl eine Intoxication des Thierorganismus, nicht aber eine Infection bewirken können. Der oben besprochene Bacillus bewirkt, in den Thierorganismus gebracht, Erscheinungen einer allgemeinen Blutmykose, die entschieden in die Kategorie der septischen, hämorrhagischen Infectionen gereiht werden muss; seine oben angegebenen kulturellen Eigenthümlichkeiten, wie auch die Art und Weise der Verallgemeinerung im Organismus, unterscheiden denselben von dem bis jetzt als Septikämieerzeuger angegebenen. Schliesslich muss ich noch bemerken, dass ich die aufgefundenen Verdickungen an Langstäbchen nicht nur als keine fertigen Sporen oder „nicht fertige" im Sinne Bienenstocks[1]) auffassen kann.

Ich muss meine oben ausgesprochene Behauptung, dass dieselben nur Involutionsformen vorstellen, aufrecht halten, und die Frage nach Vorhandensein etwaiger Sporen bei denselben späteren Forschungen überlassen.

Sollte sich die von Hueppe[2]) angegebene Bakterieneintheilung behaupten, so bin ich geneigt, den aufgefundenen Bacillus unter die von ihm angegebene Gattung Spirulina einzureihen, vorläufig, bis sich eine allgemein anerkannte Eintheilung Bahn gebrochen hat, möchte ich denselben unter die Bacillen gezählt sehen.

Ich ersehe es an dieser Stelle noch als meine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Emmerich, unter dessen Leitung diese Arbeit zum grössten Theil ausgeführt wurde, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

München, im December 1888.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. I. Die Formen des Bacillus murisepticus pleomorphus. (Leitz, Oelimm. 1/12, Ocular 5.)

Fig. II. Die Formen der Kolonieen in 10 % F. P. G. bei Leitz, System 3. Ocular 3. No. 1. 10 Stunden alt, No. 2. 20, No. 3. 30, No. 4. 36 Stunden alt.

Fig. III. Schwärmende Doppelkolonie auf 10 % F. P. G. nach 48 Stunden.

Fig. IV. Kolonieen am Agar bei Leitz, System 3. Ocular 3.

Fig. V. Blut einer nach 24 Stunden verstorbenen Maus. (Leitz, Oelimm. 1/12, Ocular 5.)

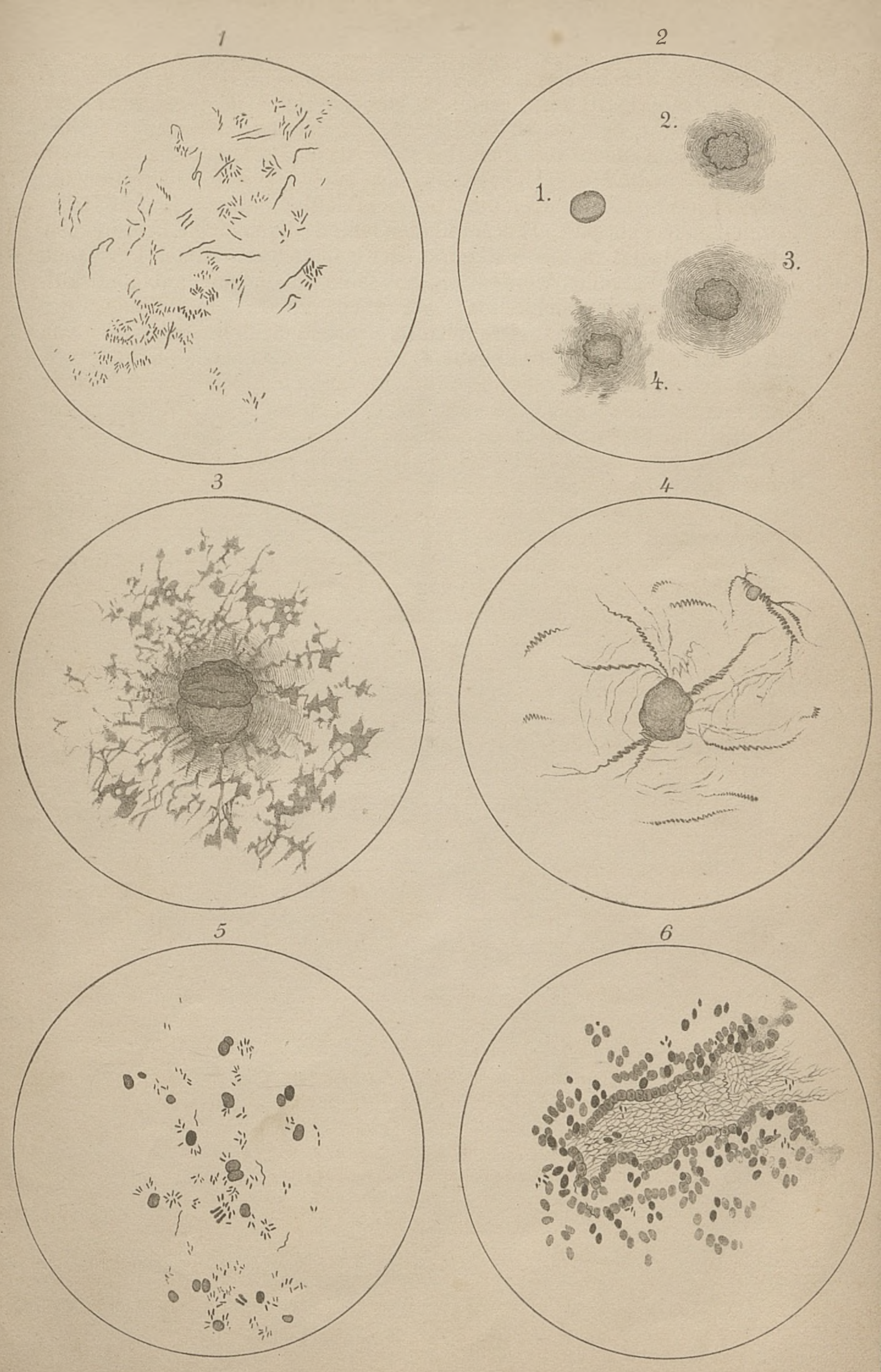
Fig. VI. Ein Blutextravasat in der Rindenschicht der Niere einer nach 26 Stunden gestorbenen Maus. (Leitz, Oelimm. 1/12, Ocular 5.)

---

1) Deutsche med. Wochenschrift. 1885. pag. 773.

2) Die Formen der Bakterien etc. 1886. pag. 148.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.



Lith. Anst. Julius Klinkhardt, Leip



